

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-320274

(43) 公開日 平成8年(1996)12月3日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 1/00	1 0 1		G 0 1 N 1/00	1 0 1 K
35/10			B 0 1 L 3/02	Z
// B 0 1 L 3/02			11/00	
11/00			G 0 1 N 33/50	P
G 0 1 N 33/50			33/543	5 3 1
審査請求 未請求 請求項の数48 F D (全 23 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平8-89050

(22) 出願日 平成8年(1996)3月19日

(31) 優先権主張番号 特願平7-86005

(32) 優先日 平7(1995)3月20日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 591081697

プレジジョン・システム・サイエンス株式
会社

東京都稲城市矢野口1843番地1

(72) 発明者 田島 秀二

東京都稲城市矢野口1843番地1 プレジ
ジョン・システム・サイエンス株式会社内

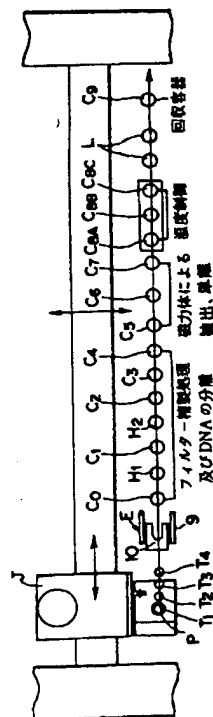
(74) 代理人 弁理士 山口 哲夫

(54) 【発明の名称】 分注機を利用した液体処理方法およびその装置

(57) 【要約】

【課題】 液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業および抽出・回収・単離作業を、分注機による液体の吸引・吐出作業および磁性体粒子の磁力体による制御または／およびフィルターと、を組み合わせることによって自動的に、かつ、高精度に行うことができる。

【解決手段】 液体吸引・吐出ラインの吸引口または吐出口に着脱自在に挿着されるチップを介して容器内から目的高分子物質が含有された液体を吸引し、この液体または目的高分子物質を目的の次処理位置へと移送するように構成されてなる分注機を利用した液体処理方法を技術的前提とし、上記チップは、吸引した目的高分子物質を、磁性体粒子に吸着させ、及び／または、チップに装着されたフィルターで分離するように構成した。



1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 液体吸引・吐出ラインの吸引口または吐出口に着脱自在に挿着されるチップを介して容器内から目的高分子物質が含有された液体を吸引し、この液体または目的高分子物質を目的の次処理位置へと移送するように構成されてなる分注機を利用した液体処理方法であって、上記チップは、吸引した目的高分子物質を、磁性体粒子に吸着させ、または／および、チップに装着されたフィルターで分離することを特徴とする分注機を利用した液体処理方法。

【請求項2】 前記目的高分子物質は、抗生物質等の有用物質やDNA等の遺伝子物質および抗体等の免疫物質であることを特徴とする請求項1に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項3】 前記目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業は、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップと、上記チップに装着される1種類以上のフィルターを利用して行なわれることを特徴とする請求項1または請求項2のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項4】 前記チップには、フィルターを保持する複数個のフィルターホルダーが多段に装着可能であることを特徴とする請求項3に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項5】 前記フィルターホルダーに保持されたフィルターは、目的高分子物質とそれ以外の夾雑物とを分離するポアサイズの異なった1種類以上のフィルターで構成されていることを特徴とする請求項3または請求項4のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項6】 請求項3乃至請求項5にいずれかに記載されたフィルターで液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業を行なった後、前記液体吸引・吐出ラインの先端部に新たなチップを着脱自在に装着し、このチップで、磁性体粒子を含有する溶液の吸引・吐出を行なう過程で、上記磁性体粒子をチップ側に配設された磁力体でチップの内面に吸着させて目的高分子物質の抽出・回収・単離作業を行うことを特徴とする分注機を利用した液体処理方法。

【請求項7】 前記目的高分子物質の捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業は、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップと、磁力と、1種類以上の磁性体粒子だけで実行されることを特徴とする請求項1または請求項2のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項8】 前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させて、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を行ない、特定の目的高分子物質を抽出することを特徴とする請求項7

2

に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項9】 前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用してプローブ或はビオチンまたはストレプトアビジンがコーティングされた磁性体粒子で特定の塩基配列断片を単離させることを特徴とする請求項7に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項10】 前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させて、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を行ない、特定の目的高分子物質を抽出し、次に、プローブあるいはビオチンまたはストレプトアビジンがコーティングされた他の磁性体粒子が特定の塩基配列断片を単離させることを特徴とする請求項7に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項11】 前記磁性体粒子を利用した目的高分子物質の捕獲・抽出・単離作業工程の後に、単離された特定の塩基配列断片を化学発光や蛍光或は酵素呈色にて、その特定の塩基配列断片の有無や量を測定することを特徴とする請求項7乃至請求項10のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項12】 前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させて、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を行ない、特定の目的高分子物質を抽出し、次に、この抽出された目的高分子物質を増幅させた後、プローブあるいはビオチンまたはストレプトアビジンがコーティングされた他の磁性体粒子が特定の塩基配列断片を単離させ、次に、この単離された特定の塩基配列断片を、化学発光、蛍光或は酵素呈色にて、その特定の塩基配列断片の有無や量を測定することを特徴とする請求項7乃至請求項10のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項13】 前記目的高分子物質の分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業または／および捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業は、単一の液体吸引・吐出ラインで処理されることを特徴とする請求項1乃至請求項12のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項14】 前記目的高分子物質の分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業または／および捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業は、複数の並設された液体吸引・吐出ラインで処理されることを特徴とする請求項1乃至請求項12のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項15】 前記液体吸引・吐出ラインは、各ラインとも同じタイミングで前記目的高分子物質の分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業または／および捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を行なうことを特徴とする請求項14に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項16】 前記複数の各液体吸引・吐出ライン

3

は、各液体毎に指定された処理工程により異なるタイミングで或いは独立した液体の吸引・吐出作動を行なうことを特徴とする請求項14に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項17】 前記液体吸引・吐出ラインの作業空間は、隔壁で画成されていることを特徴とする請求項13乃至請求項16のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項18】 前記液体吸引・吐出ラインのライン作業空間には、エア吸引口をそれぞれ設け、作業空間はエア流によって画成されていることを特徴とする請求項13乃至請求項16のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項19】 前記液体吸引・吐出ラインの作業空間は、隔壁で画成されていると共に、この隔壁で画成された作業空間内のエアは、作業空間に配設されたエア吸引口から吸引されることを特徴とする請求項13乃至請求項16のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項20】 前記磁性体粒子は、その表面に、目的高分子物質または目的高分子物質結合物質と結合することを特徴とする請求項1乃至請求項19のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項21】 前記磁性体粒子は、前記チップの外側から作用する磁力によってチップ内壁面に吸着され、かつ、上記磁力の影響が及ばないときにチップ内壁面から離脱可能であることを特徴とする請求項1乃至請求項19のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項22】 前記チップ内への磁力の供給或は消磁の制御は、永久磁石をチップの長軸方向と直交する方向または直交する方向を含んで移動させることで行なわれることを特徴とする請求項1乃至請求項21のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項23】 前記チップ内への磁力の供給或は消磁の制御は、電磁石のオン・オフにより行なうことを特徴とする請求項1乃至請求項21のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項24】 前記電磁石は、チップの外側に当接したときに磁力を発生させ、消磁したときにはチップの長軸方向と直交する方向または直交する方向を含んで移動させることで行なわれるように駆動制御されていることを特徴とする請求項23に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項25】 前記永久磁石または電磁石のチップ方向への移動のときに、挟持体が同期して移動し、上記永久磁石または電磁石と挟持体とで前記チップを挟持することを特徴とする請求項21乃至請求項24のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項26】 前記チップを、液体内に浸漬される細径部と、液体が収容された容器の容量以上の容量を有す

4

る太径部と、上記細径部と太径部との中間に形成された少なくとも上記太径部よりも口径が小さい中間部と、から構成し、該中間部で磁性体粒子を捕獲することを特徴とする請求項1または請求項6乃至請求項25のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項27】 前記チップの中間部の内径は、該磁力体の強磁域が及ぶのに十分な寸法を有して構成され、磁性体粒子は、この磁力体の強磁域の磁力により迅速に捕獲されることを特徴とする請求項26に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項28】 前記チップの中間部の内径は、該中間部に当接する磁力体の当接面の幅寸法と略同一に形成されていることを特徴とする請求項26または請求項27のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項29】 前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップ内壁面への磁性体粒子の吸着は、液体がチップ内の磁力域を、磁性体粒子がほぼ完全に捕獲するに十分遅い速度で1回以上通過するときに行なわれるように液体の吸引または／および吐出作動がコントロールされていることを特徴とする請求項1または請求項6乃至請求項28のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項30】 前記チップ内を通過する液体は、吸引または吐出される最終の液面が必ず上記磁力域に達するようにコントロールされていることを特徴とする請求項29に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項31】 前記チップ内に磁性体粒子を吸着するときは、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップの先端部が、液体が収容された容器の内底部に当接した後、ごく僅かに上昇して液体を吸引するように駆動制御されていることを特徴とする請求項1または請求項6乃至請求項30のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項32】 前記チップ内に吸着された磁性体粒子と反応試薬または洗浄水との攪拌混合は、前記液体吸引・吐出ラインによる吸引・吐出作業が、液体と磁性体との攪拌混合に十分な連続する回数で高速で行なわれることで達成されることを特徴とする分注機を利用した液体処理方法。

【請求項33】 前記チップ内に吸着された磁性体粒子と反応試薬または洗浄水との攪拌混合のときは、前記液体吸引・吐出ラインによる吸引・吐出作業は、チップ先端部が容器内に収納された反応試薬または洗浄水に必ず浸漬した状態のまま気泡が混入しないように駆動制御されていることを特徴とする請求項32に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項34】 前記目的高分子物質と試薬等との反応または目的高分子物質の増幅に必要な温度制御は、反応液或は増幅対象液を前記チップで予め一定温度に保たれた各恒温容器に移送して行なうことを特徴とする分注機

5

を利用した液体処理方法。

【請求項35】 前記液体吸引・吐出ラインは、温度制御のときに、該ラインの先端部に蓋体を装着し、該蓋体は、この液体吸引・吐出ラインを介して温度制御されている恒温容器に装着されることを特徴とする請求項34に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項36】 前記液体吸引・吐出ラインまたは該ラインに装着されたチップは、前記蓋体を突き破って恒温容器内の反応液或は増幅液を吸引するように駆動制御されていることを特徴とする請求項35に記載の分注機を利用した液体処理方法。

【請求項37】 水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持された液体吸引・吐出ラインと、該液体吸引・吐出ラインの液体吸引・吐出作業を行なう手段と、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記処理に必要なフィルターが配設された1以上のフィルターホルダと、上記処理に必要な他の液体が収容された1以上の容器と、を配置し、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップは、制御装置からの指令に基づき上記チップにフィルターホルダを装着したまま移送されつつ液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業を行うように駆動制御されていることを特徴とする分注機を利用した液体処理装置。

【請求項38】 水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持された液体吸引・吐出ラインと、該液体吸引・吐出ラインの液体吸引・吐出作業を行なう手段と、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記チップに液体が吸引され或は吐出するときに、液体に含有されている磁性体粒子をチップ内壁面に吸着させる磁力体と、上記処理に必要な他の液体が収容された1以上の容器と、を配置し、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップは、制御装置からの指令に基づき上記チップを移送しつつ液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を行うように駆動制御されていることを特徴とする分注機を利用した液体処理装置。

【請求項39】 水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持された液体吸引・吐出ラインと、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記処理に必要なフィルターが配設された1以上のフィルターホルダと、上記処理に必要な他の液体が収容された1以上の容器と、磁性体粒子が含有された溶液が収容された容器と、該磁性体粒子を含有する溶液の吸引・吐出を行なう過程で該磁性体粒子を上記チップの内面に吸着させる磁力体と、を配置し、制御装置からの指令に基づき上記液体吸引・吐出ラインを移送しつつ液

6

体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業および目的高分子物質の抽出・回収・単離作業を自動的に行うように構成されてなる分注機を利用した液体処理装置。

【請求項40】 前記液体吸引・吐出ラインに、該液体吸引・吐出ラインに嵌合保持されたチップを係止して保持するフックを回動自在に軸支し、該フックは、常態においては、液体吸引・吐出ラインとチップとの連結状態を保持する方向に付勢されていると共に、該フックは、所定位置に配設されたロック解除体によって液体吸引・吐出ラインとチップとの係止状態を解除する方向に付勢されていることを特徴とする請求項37乃至請求項39のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理装置。

【請求項41】 前記チップの先端部に装着された前記フィルターホルダーは、係合体に係止された状態で液体吸引・吐出ラインが上昇することで、該チップおよび/またはフィルターホルダーが液体吸引・吐出ラインまたはチップの端部から離脱するように移送されることを特徴とする分注機を利用した液体処理装置。

【請求項42】 容器を、複数の液収容部をもったカセット状で形成し、反応或は処理上必要な検体や試薬を予め各液収容部に分注しておき、前記磁力体の磁力によって前記チップの内面に磁性体粒子を付着させて移送することを特徴とする分注機を利用した液体処理装置。

【請求項43】 前記各液収容部には、予め必要な試薬を分注しておき、該液体収容部の一部または全部を、液体吸引・吐出ラインまたはチップで破断可能な薄膜体で密閉したことを特徴とする請求項42に記載の分注機を利用した液体処理装置。

【請求項44】 前記磁力体を永久磁石で構成し、該永久磁石は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成されていると共に、上記チップの長軸方向と直交する方向または直交する方向を含んで移動可能に配設されていることを特徴とする請求項37乃至請求項43のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理装置。

【請求項45】 前記磁力体を電磁石で構成し、該電磁石は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成されていると共に、上記チップの外側に当接したときに磁力を発生させ、消磁したときにはチップから離間する方向に移動可能に配設されていることを特徴とする請求項37乃至請求項43のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理装置。

【請求項46】 前記永久磁石または電磁石には、チップ方向への移動のときに同期して移動する挟持体を付設し、該挟持体は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成されており、該挟持体と上記永久磁石または電磁石とで前記チップを挟持するように構成されていることを特徴とする請求項44または請求項45のいずれかに記載の分注機を利用した液体処理装置。

【請求項47】 前記液体吸引・吐出ラインによる液体

7

処理工程に、目的高分子物質と試薬等との反応または目的高分子物質の増幅に必要な温度制御工程を入れ、反応液或は増幅対象液を前記チップで予め所定温度に保たれた各恒温容器に移送して温度制御を行なうと共に、上記反応液或は増幅対象液が収容された恒温容器には、上記液体吸引・吐出ラインの先端部に装着可能な蓋体が、液体吸引・吐出ラインによって装着されることを特徴とする分注機を利用した液体処理装置。

【請求項48】 前記蓋体は、前記恒温容器の口径よりも大きな直径を有する平面部と、該平面部の略中央部に形成され前記液体吸引・吐出ラインまたはチップの先端外径と同じ口径を有する保持溝部と、から構成され、上記保持溝部の底部は、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップで破断可能な薄膜体で形成されていることを特徴とする請求項47に記載の分注機を利用した液体処理装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 この発明は、液体及び液体中に含まれる目的高分子物質、例えば、抗生物質等の有用物質やDNA等の遺伝子物質および抗体等の免疫物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業または／および目的高分子物質の抽出・回収・単離作業を、分注機の液体吸引・吐出ラインによる液体の吸引・吐出作業によって自動的、かつ、高精度に行うことができる分注機を利用した液体処理方法およびその装置に関する。

【0002】

【従来の技術】 近年、DNA等の研究は、工学分野や医学分野、農学分野、理学分野、薬学分野等、あらゆる分野で行なわれており、その目的は、ゲノムシーケンシング、臨床診断、農植物品種改良、食品菌検査、創薬システム等、様々である。

【0003】 このように非常に適用分野が広く、また、その応用が期待される各種免疫検査や細胞・DNA・RNA・mRNA・プラスミド・ウイルス・細菌等の分子生物、微生物或は物質（以下、本明細書では単に目的高分子物質という。）の構造解析を行う場合には、その前処理として検体及び検体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業や目的高分子物質の抽出・回収・単離作業を高精度で行う必要がある。

【0004】 例えば、DNA診断等の遺伝子の構造解析を例にとり説明すると、まず目的とする遺伝子を含むDNA領域を抽出・回収・単離する必要がある。遺伝子の抽出・回収・単離技術は、遺伝子クローニング技術やゲノムシーケンシング技術として既に確立されており、現在では、十分な時間と費用をかければ、いかなる遺伝子でも単離できるものと考えられている。従って、目的とする遺伝子DNAが抽出・回収・単離されていれば、そ

8

れを基にどのような遺伝子解析も原理的には可能である。

【0005】 しかしながら、例えば、ヒトでは、特定の目的とする遺伝子DNAは、全ゲノムDNA中の数百万分の一というように、実際には、入手可能な被検DNA量が極めて少なく、また、目的外のDNA・RNA量が極めて多く、解析が困難であるのが現状である。

【0006】 このため、DNA診断等の遺伝子の構造解析のためには、まず目的とする遺伝子を含むDNA領域を抽出・回収・単離することが重要である。以下に、このDNAの抽出・回収・単離のための基本的な方法について説明する。

【0007】 DNAは、細胞の中で蛋白と複合体をつくって核に存在している。細胞または細胞核をSDS（界面活性剤ドデシル硫酸ナトリウム）で処理し、DNAを可溶化した後、蛋白分解酵素とフェノールで除蛋白するというのがDNA抽出の基本である。

【0008】 即ち、組織からDNAを抽出するときには、まず、摘出した組織を氷の中に入れ低温に保った後、この冷やした組織を0.1g程度の小切片に切断し、氷冷したバッファA（0.01M Tris HCl, pH7.8, 0.1M NaCl, 2mM MgCl₂）で軽く洗浄する。この組織を20倍の容量の上記バッファAの中に入れ、Potter型ホモジナイザーで5～10回ホモナイズする。この後、これを遠心管に移し、遠心分離（2,000rpm, 5分間）する。細胞核、細胞そのものは沈殿するので、上清を捨てる。培養細胞から抽出するときには、細胞を氷冷したバッファB（0.01M Tris HCl, pH7.8, 0.1M NaCl, 2mM EDTA）によく懸濁し、遠心分離する。沈殿した核や細胞を100倍の容積のバッファBで再びよく懸濁する。

【0009】 このようにして細胞の塊がなくなるまでよく懸濁した後、10% SDS溶液を1/20量加えて細胞を溶解させる。その溶液にプロテイナーゼK（10mg/ml）を1/50量加え、50℃で4時間作用させ、蛋白を分解する。粘性が高いので時々攪拌する。次に、フェノール抽出を3回行う。このとき、物理的な力がかからないように丁寧に抽出作業を行う必要がある。

【0010】 次に、少なくとも100倍量のバッファC（10mM Tris HCl, pH7.8/0.1mM EDTA）に対して約18時間透析し、4℃で保存する。

【0011】 このような工程を経ることで、組織0.1gから約0.2mgのDNAが得られる。以上は、組織及び細胞からのDNA抽出工程であるが、この他に、アルカリ法によるプラスミドDNAを得る方法（少量調整法）や、沸騰法によるDNAの回収または大量調整法による閉環プロマイドDNA回収も公知である。

【0012】

【従来技術の課題】 このように、DNA診断等の遺伝子の構造解析のためのDNAの抽出・回収・単離は、上記公知の方法により行なうことができることは既に説明し

たが、かかる組織及び細胞からDNAを単離させる作業は、上記組織及び細胞からのDNA抽出工程で述べた手順からも明らかなように、非常に煩雑であり、かつ、長時間を要する、という問題を有していた。

【0013】加えて、上記手段で抽出されたDNA等の構造解析法も、従来、遠心分離法、高速液体クロマト法、ゲル電気泳動法、ディスポカラム法、透析法、ガラスパウダー法、磁性体粒子洗浄ノズル法等、非常に多種の方法が実行されているが、それぞれに一長一短があり、高精度で確実な構造解析法には至っていないのが現状である。

【0014】即ち、遠心分離法の場合には、容器の自動装填および取り出しの自動化が非常に難しく、また、遠心後、上清・沈澱の分画を機械的に行なうことが非常に難しく、汎用性に乏しい、という問題を有している。

【0015】また、高速液体クロマト法の場合、分離カラムが基本的に消耗品となるので、該カラムへの試料にインジェクションや分離時間管理が機械化できず、また、同じカラム内を通過するので、コンタミネーションを完全に防止することができない、という問題を有して

いる。

【0016】さらに、ゲル電気泳動法の場合、ゲルの調整を機械化することができず、DNAの分離は基本手法としては一般的であるが、その分離断片を取り出すのは用手法により行なわざるを得ない、という問題を有している。

【0017】一方、ディスポカラム法は、特定のDNA断片を取り出すためキット化される一つの手法であるが、コストが非常に高く、また、使用範囲も狭い。しかも、分注・カラム通過液をコントロールしにくく、機械化には解決すべき問題が多々ある、という問題を有して

いる。

【0018】また、透析法は、透析に時間がかかり、また、少量対応がしにくいので、あまり用いられてはいない。

【0019】ガラスパウダー法は、二酸化珪素の物質を利用したDNAの優れた抽出法で、工程は簡便であるが、フィルターか遠心分離によりパウダーを分離するため、全自動化しにくい、という問題を有している。

【0020】さらに、磁性体粒子洗浄ノズル法は、磁性体によりシリンドーと吸引・吐出制御で自動化できるが、ノズルの洗浄方式では基本的にコンタミネーションを解決することができない、という問題を有している。

【0021】この発明は、かかる現状に鑑み創案されたものであって、その目的とするところは、液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業および抽出・回収・単離作業を、分注機による液体の吸引・吐出作業および磁性体粒子の磁力体による制御または／およびフィルターとを組み合わせることによって自動的に、かつ、高精度に行

うことができる全く新規な分注機を利用した液体処理方法およびその装置を提供しようとするものである。

【0022】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するため、この発明にあっては、液体吸引・吐出ラインの吸引口または吐出口に着脱自在に挿着されるチップを介して容器内から目的高分子物質が含有された液体を吸引し、この液体または目的高分子物質を目的の次処理位置へと移送するように構成されてなる分注機を利用した液体処理方法を技術的前提とし、上記チップは、吸引した目的高分子物質を、磁性体粒子に吸着させ、および／または、チップに装着されたフィルターで分離するように構成したことを特徴とするものである。

【0023】この発明の対象となる目的高分子物質は、抗生物質等の有用物質やDNA等の遺伝子物質および抗体等の免疫物質であり、特に、細胞・DNA・RNA・mRNA・プラスミド・ウイルス・細菌等の分子生物や微生物或は特定の高分子物質が対象となる。

【0024】この発明において、上記目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業は、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップと、上記チップの先端部に装着される1種類以上のフィルターを利用して行なうことができる。

【0025】この場合、上記チップには、例えば、1段目に血球の殻を取るフィルターが配設されたフィルターホルダーを装着し、2段目にDNAを捕獲するシリカメンブランフィルターが配設されたフィルターホルダーを装着する、という具合に、複数個のフィルターホルダーを多段に装着することができる。また、各フィルターホルダーを装着して目的高分子物質の分離を行なう場合、チップやフィルターホルダーを各1個づつ嵌合して処理してもよいし、多段に重ねて装着して複数の作業を一度に行なってもよい。

【0026】尚、この発明において用いられるフィルターは、目的高分子物質とそれ以外の夾雑物とを分離するポアサイズ（フィルターの透過径）の異なった1種類以上のものが用いられる。

【0027】また、この発明において用いられる磁性体粒子は、その表面が、目的高分子物質または目的高分子物質結合物質と吸着または結合するように形成されているものが用いられる。

【0028】この発明において、上記フィルターで液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業を行なった後は、前記液体吸引・吐出ラインの先端部に新たなチップを着脱自在に装着し、このチップで、磁性体粒子を含有する溶液の吸引・吐出を行なう過程で、上記磁性体粒子をチップ側に配設された磁力体でチップの内面に吸着させて目的高分子物質の抽出・回収・単離作業を行うことができる。

11

【0029】勿論、この発明にあっては、上記フィルターを用いることなく、上記目的高分子物質の捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップと、磁力と、1種類以上の磁性体粒子だけで実行することも十分可能である。

【0030】この場合、上記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させ、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を行なうことで、特定の目的高分子物質を抽出することができる。

【0031】また、上記液体処理方法においては、上記抽出作業の後に、液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用してプローブ或はビオチンまたはストレプトアビジンがコーティングされた磁性体粒子で特定の塩基配列断片を単離させることもできる。

【0032】さらに、上記液体処理方法にあっては、上記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させて、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を行ない、特定の目的高分子物質を抽出し、次に、プローブあるいはビオチンまたはストレプトアビジンがコーティングされた他の磁性体粒子が特定の塩基配列断片を単離させる、という一連の作業を分注機の液体吸引・吐出ラインで容易に行なうことができる。

【0033】また、この発明にあっては、前記磁性体粒子を利用した目的高分子物質の捕獲・抽出・単離作業工程の後に、単離された特定の塩基配列断片を化学発光や蛍光、或は、酵素呈色にて、その特定の塩基配列断片の有無や量を測定することもできる。

【0034】さらに、この発明に係る液体処理方法にあっては、上記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させて、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を行ない、特定の目的高分子物質を抽出し、次に、この抽出された目的高分子物質を増幅させた後、プローブあるいはビオチンまたはストレプトアビジンがコーティングされた他の磁性体粒子が特定の塩基配列断片を単離させ、次に、この単離された特定の塩基配列断片を、化学発光、蛍光或は酵素呈色にて、その特定の塩基配列断片の有無や量を測定する、という一連の作業を分注機の液体吸引・吐出ラインで行なうことも可能である。

【0035】この発明において、上記目的高分子物質の分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業または／および捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業は、単一の液体吸引・吐出ラインで処理し、或は、複数の並設された液体吸引・吐出ラインで処理することができる。

【0036】複数の並設された液体吸引・吐出ラインで処理する場合、上記液体吸引・吐出ラインは、各ラインとも同じタイミングで前記目的高分子物質の分離・分取

12

・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業または／および捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を行なうように駆動制御され、或は、各液体毎に指定された処理工程により異なるタイミングで或いは独立した液体の吸引・吐出作動を行なうこともできる。

【0037】DNA等の抽出解析作業の場合、厳密には、処理ライン間の空気汚染も防止する必要があることから、このような厳格な解析環境が必要な場合には、上記単一または複数の液体吸引・吐出ラインの作業空間を隔壁で画成し、或は、各ライン作業空間のエアを、エア吸引口から吸引し続けて、作業空間をエア流によって画成するのが望ましい。勿論、この隔壁による画成とエア流による画成とを併用してもよい。

【0038】また、この発明にあっては、前記磁性体粒子は、前記チップの外側から作用する磁力によってチップ内壁面に吸着され、かつ、上記磁力の影響が及ばないときにチップ内壁面から離脱可能に保持されるのが特徴である。

【0039】このチップ内への磁力の供給或は消磁の制御は、永久磁石をチップの長軸方向と直交する方向または直交する方向を含んで移動させて行なうか、或は、電磁石のオン・オフにより行なわれる。

【0040】電磁石で行なう場合には、チップの外側に当接したときにオン作動させて磁力を発生させ、消磁したときには、上記電磁石をチップの長軸方向と直交する方向または直交する方向を含んで移動させる。

【0041】また、この発明にあっては、液体吸引・吐出ラインからチップを外すときに、上記永久磁石または電磁石のチップ方向への移動のときに同期作動する挟持体と上記永久磁石または電磁石とで上記チップを挟持した後、液体吸引・吐出ラインを上昇させることで実行することができる。

【0042】尚、この発明にあっては、上磁力による磁性体粒子の完全な捕獲を行なうため、上記チップを、液体内に浸漬される細径部と、液体が収容された容器の容量以上の容量を有する太径部と、上記細径部と太径部との間に形成された少なくとも上記太径部よりも口径が小さい中間部と、から構成し、該中間部で磁性体粒子を捕獲するように構成したことを特徴とするものである。

この場合、上記チップの中間部の内径は、該磁力体の強磁域が及ぶのに十分な寸法を有して構成され、磁性体粒子は、この磁力体の強磁域の磁力により迅速に捕獲されるように構成するのが重要である。実験からの経験則によれば、上記チップの中間部の内径は、該中間部に当接する磁力体の当接面の幅寸法と略同一に形成するのが最も効果的であった。

【0043】また、この発明では、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップ内壁面への磁性体粒子の吸着を、液体の吸引又は／及び吐出作業のときに、液体がチップ内の磁力域を、磁性体粒子がほぼ完全に捕獲するに

10

20

30

40

50

13

十分遅い速度で1回以上通過するときに行なうことで、磁性体粒子の完全な捕獲を実現することができる。

【0044】そして、磁性体粒子のより完全な捕獲を実現させるには、前記チップ内を通過する液体は、吸引または吐出される最終の液面が必ず上記磁力域に達するようにコントロールすることが重要である。

【0045】尚、この発明において、所謂シングルノズルによって液体の吸引・吐出を行なう場合には、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップの先端部が、液体が収容された容器の内底部に当接した後、ごく僅かに、例えば、0.5mm以下の間隔で上昇させて液体を吸引することで、容器内の液体をほぼ全量吸引することができ、反応の均一性を保持させることができる。

【0046】また、この発明にあつては、前記チップ内に吸着された磁性体粒子と反応試薬または洗浄水との攪拌混合は、前記液体吸引・吐出ラインによる吸引・吐出作業が、液体と磁性体粒子とを攪拌混合するに十分な連続した回数で高速に行なう、所謂パッピング制御で行なうことが重要である。用手法のような不均一でスローモーションな制御では、液体と磁性体粒子の攪拌混合を均一に行なうことは不可能である。

【0047】そして、このような攪拌混合作業を行なう場合、気泡を混入させないため、前記液体吸引・吐出ラインによる吸引・吐出作業は、チップ先端部が容器内に収納された反応試薬または洗浄水に必ず浸漬した状態のまま実行する。勿論、このときは、吸引・吐出量は容器の液量よりも少なくなるように制御される。

【0048】そして、この発明に係る液体の処理方法にあつては、前記目的高分子物質と試薬等との反応または目的高分子物質の増幅を促進させるため、必要な温度制御を行なう場合もあり、この場合には、反応液或は増幅対象液を前記チップで予め一定温度に保たれた各恒温容器に移送して加熱或は冷却を行なうことで、反応液或は増幅対象液に対する加熱・冷却に要する時間を大幅に短縮化することができる。加熱手段としては、公知のヒータブロックやペルチェ素子を利用することができる。

【0049】この温度制御のときには、前記液体吸引・吐出ラインは、該ラインの先端部に蓋体を装着し、該蓋体を、この液体吸引・吐出ラインを介して温度制御されている恒温容器に装着することで、液体の蒸発を防止するのが望ましい。

【0050】そして、上記蓋体は、反応或は増幅作業が終了後、前記液体吸引・吐出ラインまたは該ラインに装着されたチップによって突き破られるように構成して、液体吸引・吐出ラインまたはチップによって、恒温容器内の反応液或は増幅液が吸引されるように構成するのが、一連の作業を全自動化する上で望ましい。

【0051】また、この発明にあつては、上記各液体処理方法を実現するため、分注機を利用した液体処理装置を、水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持

14

された液体吸引・吐出ラインと、該液体吸引・吐出ラインの液体吸引・吐出作業を行なう手段と、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記処理に必要なフィルターが配設された1以上のフィルターホルダと、上記処理に必要な他の液体が収容された1以上の容器と、を配置し、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップは、制御装置からの指令に基づき上記チップにフィルターホルダを装着したまま移送しつつ液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業を行うように駆動制御されるように構成したことを特徴とするものである。

【0052】また、この発明にあつては、前記目的を達成する他の構成として、分注機を利用した液体処理装置を、水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持された液体吸引・吐出ラインと、該液体吸引・吐出ラインの液体吸引・吐出作業を行なう手段と、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記チップに液体が吸引され或は吐出するときに、液体に含有されている磁性体粒子をチップ内壁面に吸着させる磁力体と、上記処理に必要な他の液体が収容された1以上の容器と、を配置して液体処理装置を構成し、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップは、制御装置からの指令に基づき上記チップを移送しつつ液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を行うように駆動制御されるように構成したことを特徴とするものである。

【0053】さらに、この発明にあつては、前記目的を達成するさらに他の構成として、分注機を利用した液体処理装置を、水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持された液体吸引・吐出ラインと、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記処理に必要なフィルターが配設された1以上のフィルターホルダと、上記処理に必要な他の液体が収容された1以上の容器と、磁性体粒子が含有された溶液が収容された容器と、該磁性体粒子を含有する溶液の吸引・吐出を行なう過程で該磁性体粒子を上記チップの内面に吸着させる磁力体と、を配置して構成し、制御装置からの指令に基づき上記液体吸引・吐出ラインを移送しつつ液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業および目的高分子物質の抽出・回収・単離作業を連続して自動的に行うように構成したことを特徴とするものである。

【0054】この発明に係る液体処理装置の場合、前記液体吸引・吐出ラインに、該液体吸引・吐出ラインに嵌合保持されたチップに係止して保持するフックを回動自在に軸支し、該フックは、常態においては、液体吸引・

15

吐出ラインとチップとの連結状態を保持する方向に付勢されていると共に、該フックは、所定位置に配設されたロック解除体によって液体吸引・吐出ラインとチップとの係止状態を解除する方向に付勢して構成してもよい。

【0055】また、上記フックが取り付けられた液体処理装置の場合、上記チップの先端部に装着された前記フィルターホルダーは、係合体に係止された状態で液体吸引・吐出ラインが上昇することで、該チップおよび／またはフィルターホルダーが液体吸引・吐出ラインまたはチップの端部から離脱するように移送することで、一連の作業を自動化することができる。

【0056】尚、この発明に用いられる容器は、複数の液収容部をもったカセット状に形成されたものを用いるのが好適であり、反応或は処理上必要な検体や試薬を予め各液収容部に分注しておき、前記磁力体の磁力によって前記チップの内面に磁性体粒子を付着させて移送することで、一本のチップでコンタミネーションを完全に防止し、かつ、高精度の液体処理が可能となる。この場合、各液収容部に予め収容された試薬は、その一部または全部が液体吸引・吐出ラインが上昇することで、該チップおよび／またはフィルターホルダーが液体吸引・吐出ラインまたはチップで破断可能な薄膜体で密封するのが望ましい。

【0057】また、この発明に係る液体処理装置においては、前記磁力体を永久磁石で構成した場合、該永久磁石は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成されていると共に、上記チップの長軸方向と直交する方向または直交する方向を含んで移動可能に配設することで、磁性体粒子の完全な捕獲は勿論、磁石の移動に伴う磁性体粒子の分散・移動による悪影響を確実に防止することができる。

【0058】勿論、この発明に係る液体処理装置においては、永久磁石に代えて、前記磁力体を電磁石で構成し、該電磁石は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成すると共に、上記チップの外側に当接したときに磁力を発生させ、消磁したときにはチップの長軸方向と直交する方向または直交する方向を含んで移動可能に配設することもできる。

【0059】これらの液体処理装置の場合、前記永久磁石または電磁石には、チップ方向への移動のときに同期して移動する挟持体を付設し、該挟持体は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成されており、該挟持体と上記永久磁石または電磁石とで前記チップを挟持するように構成することで、チップの取り外しを容易に行なうことができる。

【0060】また、この発明に係る液体処理装置においては、前記液体吸引・吐出ラインによる液体処理工程に、目的高分子物質と試薬等との反応または目的高分子物質の増幅に必要な温度制御工程を入れ、反応液或は増幅対象液を前記チップで予め所定温度に保たれた各恒温

16

容器に移送して温度制御を行なうと共に、上記反応液或は増幅対象液が収容された恒温容器には、上記液体吸引・吐出ラインの先端部に装着可能な蓋体が、液体吸引・吐出ラインによって装着されるように構成することもできる。

【0061】この場合、上記蓋体は、前記恒温容器の口径よりも大きな直径を有する平面部と、該平面部の略中央部に形成され前記液体吸引・吐出ラインまたはチップの先端外径と同じ口径を有する保持溝部と、から構成し、上記保持溝部の底部を、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップで破断可能な薄膜体で形成することが望ましい。

【0062】尚、この発明において用いられるチップは、基本的には、太径部と中間部と細径部とで構成されているが、フィルターホルダーが嵌合されるチップと磁性体が接離するチップとでは、中間部や細径部の長さ寸法は、フィルターホルダーが嵌合されるチップの方が短寸となるように異なって形成されていると共に、太径部の直径もフィルターホルダーが嵌合されるチップの方が太径となるように異なって形成されており、該太径部が嵌合される液体吸引・吐出ラインの先端部は、この直径が異なる各チップを嵌合できるように段部を形成して構成するのが望ましい。

【0063】

【発明の実施の形態】以下、添付図面に示す実施の形態例に基づき、この発明を詳細に説明する。

【0064】図1には、この発明をDNA抽出・回収・単離のための装置に適用した一構成例が示されている。

【0065】この装置は、XYZ移動機構で昇降自在、かつ、水平移動自在にノズルユニットJに保持されたピペットノズルPと、図1左側から右側に順にチップT₁、T₂、T₃、T₄、チップ取り外し体E、検体容器C₀、第1フィルターホルダーH₁、セルC₁、第2フィルターホルダーH₂、セルC₂、セルC₃、セルC₄、セルC₅、セルC₆、セルC₇、恒温セルC_{8A}、C_{8B}、C_{8C}、DNA回収セルC₉が配列されて構成されている。

【0066】即ち、この形態例では、チップT₁、T₂、T₃はフィルターホルダーH₁、H₂を保持できる形状を有し、また、チップT₄は磁性体粒子を捕獲する形状を有している。尚、この形態例では磁性体粒子を捕獲するチップを1本のチップT₄のみを用いて処理する場合を例にとり説明しているが、この発明にあつては、これに限定されるものではなく、処理工程に対応させて複数本用いるように構成してもよいこと勿論である。

【0067】また、この形態例では、検体容器C₀、第1フィルターホルダーH₁、セルC₁、第2フィルターホルダーH₂、セルC₂、セルC₃、セルC₄までがフィルター精製工程を司るものである。

【0068】また、セルC₅、セルC₆、セルC₇は、磁性反応・抽出・単離工程を司り、さらに、恒温セルC

17

8A, C8B, C8Cは、温度制御を司る。

【0069】このように、各セルを順に並べることで、一検体を一列に並べた状態で処理することができると共に、ピペットノズルPの駆動制御も単純化できる。勿論、これら各セル等の配列は、処理工程に対応させて適宜組み合わせ或は変更して配列される。

【0070】ピペットノズルPは、サーボモータやパルスモータで吸引・吐出量を厳格に制御できるシリンダと直結或は至近距離を保って接続され、ユニット化されて一体化されているものが望ましい。

【0071】このピペットノズルPが保持されるノズルユニットJは、図2に示すように、XY方向（水平方向）に移動可能に保持された上下ガイド体1と、この上下ガイド体1に連結されて上下動するホルダ2と、このホルダ2から水平方向に延びる保持体3と、この保持体3に上下方向に貫通して保持された上記ピペットノズルPと、上記保持体3内に配設され上記ピペットノズルPを常態において下方向に付勢するスプリング4と、上記保持体3の下突出部5の対向部に回転自在に軸支されたフック体6、6と、から構成されている。尚、図中符号Zは、ピペットノズルPの下降量を制御するセンサである。

【0072】上記フック体6、6は、上記下突出部5に固着された板ばね7、7の付勢力によって、常態において閉方向に付勢されている。尚、上記スプリング4は、ピペットノズルPのクッションとして配設されるものであるため、ピペットノズルPと保持体3のどの部分に配設してもよく、また、板ばね7、7は、ピペットノズルPに直接取り付けられることもできる。

【0073】このように構成されたノズルユニットJは、上記したように、XYZ方向（水平上下方向）に移動可能に構成されており、このノズルユニットJに保持されたピペットノズルPの下端部には、上記チップT₁、T₂、T₃が嵌装され、この嵌装状態は、上記フック体6、6がチップT₁、T₂、T₃のフランジ8を抱持する状態で係止することで保持されるように構成されている。

【0074】また、上記フック体6、6によるピペットノズルPとチップT₁、T₂、T₃との連結状態（係止状態）を解除するチップ取り外し体Eは、図2と図3に示すように、チップを廃棄する位置に配設された一対のロック解除ロッド9、9と、図4と図5に示すように、このロック解除ロッド9、9の下方に配設された、例えば、板状のU字体10と、上記ピペットノズルPから離脱したチップT₁、T₂、T₃が廃棄される廃棄槽（図示せず）と、から構成されている。

【0075】このように、ピペットノズルPとチップT₁、T₂、T₃とをフック体6、6で係止し保持するのは、液体の吐出圧力や、チップT₁、T₂、T₃からフィルターホルダH₁、H₂を離脱させるときに、ピペッ

18

トノズルPとチップT₁、T₂、T₃との嵌合状態が解除されてないように配慮したためである。

【0076】従って、上記フック体6、6によるピペットノズルPとチップT₁、T₂、T₃との連結状態を解除する場合には、チップ取り外し体Eが配設された位置で先ずノズルユニットJを下降させる。

【0077】すると、上記ロック解除ロッド9、9にフック体6、6の水平フランジ部6a、6aが当接し、さらに、上記ノズルユニットJが下降すると、該フック体6、6は、図3に示すように、軸11、11を支点として開方向に回動し、ピペットノズルPとチップT₁、T₂、T₃とのロック状態が解除される。

【0078】この状態から上記ノズルユニットJは、水平方向に移動し、図4に示すように、チップT₁、T₂、T₃のフランジ8が上記U字体10の下面に移動して該U字体10のU字状溝部12にピペットノズルPの胴部が嵌め込まれ、この後、上記ノズルユニットJが上昇すると、チップT₁、T₂、T₃のフランジ8が上記U字体10のU字状溝部12の周縁部と当接して、その上昇が規制されるので、ピペットノズルPのみが上昇して、該ピペットノズルPからチップT₁、T₂、T₃がしごき落とされる。

【0079】尚、上記U字体10は、この形態例では、板体にU字状溝部12を開設して形成した場合を例にとり説明したが、例えば、図6に示すように、上記ロック解除ロッド9、9の端部13をU字状に連結して一体形成しても同様の効果が得られる。

【0080】また、このロック解除ロッド9、9とU字体10は、チップ取り外し体Eの配設位置だけではなく、後記する必要な位置に適宜配設される。

【0081】ところで、この形態例では、チップT₁、T₂、T₃が一組として用いられる。この数は、処理工程に対応させて増減されることは勿論である。また、セルC₆、C₇の数も図示の形態例に限定されるものではなく、必要に応じて増減できる。

【0082】そして、上記ピペットノズルPの下端部には、図7に示すように、2つの段部P_a、P_bが形成されており、チップT₁、T₂、T₃は、上記1段目の段部P_aに着脱自在に装着され、また、チップT₄は2段目の段部P_bに着脱自在に装着される。

【0083】さらに、上記ピペットノズルPの下端部は、図8に示すように、その外周面から外方に突出するフランジP_c、P_cが突設されている面と、このフランジP_c、P_cと直交する面P_dが平面状に形成されている。

【0084】このようにフランジP_c、P_cを突設することで、前記取り外し体EによるチップT₁、T₂、T₃の取り外しを行うことができ、また、平面状に形成された面P_dを有することで、挟持体Vと磁力体MによりチップTを挟持して取り外すことができる。

19

【0085】この挟持体Vと磁力体Mは、図9に示すように、公知のギア機構やカム機構或はラックアンドピニオン機構等からなる開閉作動機構Lにより同期して開閉作動するように構成されており、該開閉作動機構Lは、図10に示すように、シリンダユニットSの下部に配設されている。

【0086】また、上記挟持体Vは、チップT₄と当接する面がチップT₄の中径部K₁₂の外形に合わせて凹設されており、該挟持体Vと磁力体Mとで前記チップT₄を挟持した後、ピペットノズルPを上昇させることで、チップT₄の取り外しを容易に行うことができる。

【0087】このように構成された各チップT₁、T₂、T₃、T₄の装着は、例えば、チップT₁、T₂、T₃、T₄の立設保持されたチップラック（図示せず）の真上までピペットノズルPを移送した後、該ピペットノズルPを下降させてピペットノズルPの下端部P_AまたはP_BにチップT₁、T₂、T₃、T₄の上端部に圧入することで行なわれる。

【0088】即ち、フィルターホルダH₁、H₂が装着されるチップT₁、T₂、T₃は、図7に示すように、細径部K₁と、この細径部K₁の上部に連設された中径部K₂と、この中径部K₂の上部に連設された太径部K₃と、が上下方向に連続して一体化されて形成されてチップが用いられており、後記するフィルターホルダH₁やH₂は、上記中径部K₂に着脱自在に装着されるように構成されている。

【0089】そして、上記チップT₁、T₂、T₃の中径部K₂は、フィルターホルダH₁、H₂の嵌合部内径とほぼ同じ直径若しくは若干大径に形成されており、また、その細径部K₁の長さは、フィルターホルダH₁、H₂が嵌合されたときに、その先端部がフィルタに接触しない程度に短く形成されている。

【0090】一方、磁性体粒子が吸着されるチップT₄は、フィルターホルダが装着されるチップT₁、T₂、T₃とは、その使用目的、使用方法が異なるため、図7に示すように、ピペットノズルPの1段目P_Aよりも細径な2段目P_Bに嵌装される内径を有する太径部K₁₃と、この太径部K₁₃よりも小径な中径部K₁₂と、該中径部K₁₂よりも細径の細径部K₁₁と、で形成されており、磁性体粒子を吸着する磁力体Mは上記中径部K₁₂に接離される。

【0091】このチップT₄の中径部K₁₂の内径は、磁力体Mの強磁域が及ぶのに十分な寸法を有して構成され、望ましくは、図11に示すように、磁力体Mのチップ当接面側幅寸法とほぼ同一となるように形成されている。

【0092】尚、本形態例では、フィルターホルダH₁、H₂が装着されたチップT₁、T₂、T₃からフィルターホルダのみを取り外す場合を例にとり説明したが、フィルターホルダH₁、H₂のみを外す必要がない

20

反応工程の場合には、フック体による係止の必要がないため、フィルターホルダ用チップの太径部口径をチップT₄と同様に形成することができる。

【0093】このように構成されたDNA抽出・回収・単離装置は、図12と図13に示す工程で駆動制御される。

【0094】まず、図12に示すように、ステップ1において、ピペットノズルPの下端部の1段目P_Aに1本目のチップT₁が挿着される。このとき、ピペットノズルPとチップT₁とは、前記フック体6、6によって係止されて連結状態が保持される。

【0095】このようにしてピペットノズルPの下端部の1段目P_AにチップT₁が装着されると、該ピペットノズルPは、検体が収容された検体容器C₀の真上まで移送された後、下降して、液面センサーZ₁（図10参照）によって液面が確認された後、チップT₁の下端部を検体内に挿入し、所要量の検体を吸引する（ステップ2）。

【0096】この検体は、本形態例では、全血をSDS溶液やプロテイナーゼKの溶液等により既に細胞核溶解や蛋白質溶解を行ったものを用いているが、本処理工程に上記溶液を用いた細胞核溶解や蛋白質溶解の工程を組み込むこともできる。

【0097】次に、検体を所要量吸引したチップT₁は、第1のフィルターF₁が配設された第1フィルターホルダH₁の真上まで移送された後、下降して、チップT₁の下端部に第1フィルターホルダH₁を嵌合係止する（ステップ3）。

【0098】この第1フィルターホルダH₁のフィルターF₁は、上記検体中の血球の殻を溶解した血液から除去してDNAを含むリンパ球液をセルC₁内へと吐出することができるように構成されている。

【0099】このようにしてチップT₁の下端部に第1フィルターホルダH₁を嵌合係止したピペットノズルPは、次に、セルC₁の真上まで移送され、該位置でピペットノズルPは吐出作動を開始して、チップT₁内に吸引された検体に必要な圧力を加えながら、該検体中の細胞膜・血球の殻とリンパ球・DNAとを分離し、リンパ球・DNAのみをセルC₁内に吐出する（ステップ4）。このとき、第1フィルターホルダH₁は、スプリング4によってピペットノズルPが下方向に付勢されているので、そのフランジ13がセルC₁の開口周縁部に押圧されて密着するので、液体の吐出圧力によるリークの発生が防止される。

【0100】次に、上記ピペットノズルPは、図1に示すチップ取り外し体Eの配設位置の真上まで移送された後、前記手順に従ってピペットノズルPの下端部からチップT₁および第1フィルターホルダH₁が取り外され（ステップ5）、この取り外されたチップT₁および第1フィルターホルダH₁は廃棄槽（図示せず）に廃棄さ

10

20

30

40

50

2 1

れる。

【0101】この後、ピペットノズルPは、再び上記チップが立設保持されたチップラックの真上まで移送され、該位置で下降して、該ピペットノズルPの下端部の1段目P₁に2本目のチップT₂が装着される（ステップ6）。この場合も、該ピペットノズルPとチップT₂も、フック体6、6によって係止され連結される。

【0102】次に、このチップT₂が装着されたピペットノズルPは、再びセルC₁の真上まで移送され、該位置で下降して、上記セルC₁内から所要量のリンパ球液を吸引する（ステップ7）。

【0103】この後、上記ピペットノズルPは、第2のシリカメンブランフィルターF₂が配設された第2フィルターホルダH₂の真上まで移送された後、下降して、チップT₂の下端部に第2フィルターホルダH₂を嵌合係止する（ステップ8）。

【0104】この第2フィルターホルダH₂のシリカメンブランフィルターF₂は、上記リンパ球液中の夾雑物からDNAを分離し、残余の液をセルC₂内へと吐出することができるように構成されている。

【0105】このようにしてチップT₂の下端部に第2フィルターホルダH₂を嵌合係止したピペットノズルPは、次に、セルC₂の真上まで移送され、該位置でピペットノズルPは吐出作動を開始して、チップT₂内に吸引されたリンパ球液に必要な圧力を加えながら、該リンパ球液中の夾雑物からDNAを分離し、残余のリンパ球液がセルC₂内に吐出する（ステップ9）。このとき、第2フィルターホルダH₂は、スプリング4によってピペットノズルPが下方に付勢されているので、そのフランジ14がセルC₂の開口周縁部に押圧されて密着し、液体の吐出圧力によるリークの発生が防止される。

【0106】次に、ピペットノズルPは、DNAを捕獲した第2フィルターホルダH₂を嵌合係止したまま洗浄液が収容された第3のセルC₃の真上まで移送された後、下降して上記第2フィルターホルダH₂をセルC₃の洗浄液中に浸漬する（ステップ10）。

【0107】この後、チップT₂および第2フィルターホルダH₂の係合状態は、図14に示すフィルターホルダ取り外し体E₁により解除され、該第2フィルターホルダH₂のみがセルC₃の洗浄液中に浸漬される（ステップ11）。尚、チップT₂は、チップ取り外し体Eの真上まで移送された後、前記手順に従ってピペットノズルPから取り外されて廃棄される。

【0108】尚、フィルターホルダ取り外し体E₁は、平面形状が略U字状の切欠溝15を有して構成され、該切欠溝15は、チップT₁、T₂、T₃の胴部の外径よりも若干太径で、フィルターホルダH₁、H₂のフランジ13、14の直径よりも細径に形成されている。

【0109】次に、ピペットノズルPは、図13に示すように、再び上記チップが立設保持されたチップラック

2 2

の真上まで移送され、該位置で下降して、該ピペットノズルPの下端部の1段目P₁に3本目のチップT₃が装着される（ステップ12）。このときも、上記ピペットノズルPとチップT₃とは、フック体6、6により係止されて連結状態が保持される。

【0110】この後、このチップT₃が装着されたピペットノズルPは、再びセルC₃の真上まで移送され、該位置で下降して、チップT₃の下端部に上記第2フィルターホルダH₂を嵌合係止する（ステップ13）。

【0111】次に、上記ピペットノズルPは、吸引作動を開始し、洗浄液とDNAの混合液を必要量吸引する。これにより、フィルター方式によるDNAの精製作業が終了する。

【0112】尚、上記形態例では、第2フィルターホルダH₂をセルC₃の洗浄液中に浸漬させる手段として、上記取り外し体Eに代えて、例えば、図15に示すように、セルC₃内に、第2フィルターホルダH₂の侵入は許容するが抜け出しは規制する係止突起Wを突設すると共に、第2フィルターホルダH₂の外周面に、上記係止突起Wと係合する係合突起Sを突設し、これら係合突起Sと係止突起Wとを係合させることで、上記第2フィルターホルダH₂をセルC₃の洗浄液中に浸漬させるように構成することもできる。

【0113】また、図示の形態例では、チップT₁、T₂、T₃に装着されるフィルターホルダの数を1個とした場合を例にとり説明したが、この発明にあっては、必要に応じて、図16に示すように、チップT₁、T₂、T₃に、フィルターホルダH₁（またはH₂）を装着し、かつ、このフィルターホルダH₁（またはH₂）にフィルターホルダH₂（またはH₁）を装着してフィルターホルダを2段連結して用いてもよく、段数も2段以上、適宜のフィルターホルダを多段に連結して用いてもよい。

【0114】さらに、液体の処理によっては、図示の形態例ではフィルター面積が足りない場合があり、このような場合には、図17に示すように、フィルターホルダH₃の中途部に、胴部よりも太径のフィルター収納部Qを膨出形成し、該フィルター収納部Q内に、フィルター面積が大きなフィルターF₃を収容させて構成してもよい。この場合のフィルター収納部Qの外径は、セルCの上端フランジ部C_Aに突設された位置決め突起C_B、C_Bの直径よりも小径に形成されるのが望ましい。尚、同図中符号Rは、フィルターF₃をフィルター収納部Qの中間部に保持するためのステー部材である。勿論、上記フィルターF₃は、その下部をメッシュで保持してもよい。

【0115】次に、上記反応工程を経て精製されたDNAを、磁性体粒子を使用した抽出・回収・単離またはPCR増幅或は温度制御する場合の工程を説明する。

【0116】即ち、この分注機を利用して表面にDNA

23

またはDNA結合物質と結合される磁性体粒子Gによる抽出・回収・単離を行なう場合には、図13のステップ14に示すように、先ず、上記ピペットノズルPを上昇させ、上記フィルターホルダ取り外し体E₁と同様の構成からなるフィルターホルダ取り外し体E₂を介して、第2フィルターホルダH₂をセルC₃内に残したまま4個目のセルC₄の真上まで移送し、この吸引されたDNA溶液を該セルC₄内に吐出する。

【0117】このセルC₄内には、表面にDNA又はDNA結合物質と結合される磁性体粒子Gが含有されている反応液が予め所要量分注されており、該反応液中にDNA溶液が吐出されることで、DNA断片と磁性体粒子Gとの反応が開始される。

【0118】このDNA溶液のセルC₄内への吐出作業が終了した上記チップT₃は、前記チップT₁、T₂と同様の手順でピペットノズルPの下端部から取り外され、廃棄される。

【0119】勿論、この後、ピペットノズルPの下端部には、上記手順と同様の手順でチップT₄が装着される。

【0120】次に、一定時間経過後、ピペットノズルPは下降して上記チップT₄を反応液中に挿入した後、チップT₄の中径部K₁₂に磁力体Mが当接し、上記ピペットノズルPによる吸引・吐出作業が1回以上必要な回数だけ行なわれて磁性体粒子と反応液との分離作業が行われる(ステップ15)。このときの吸引・吐出作業は磁性体粒子がほぼ完全に捕獲されるようにゆっくりとした速度で行なわれる。この場合、吸引或は吐出される反応液は、最終の液面が磁力体Mの磁力が及ぶ範囲内を通るように吸引・吐出制御することが、磁性体粒子をより完全に吸着する上で重要となる。

【0121】この分離作業により、磁力体Mの磁力によって、DNAが吸着した磁性体粒子GのみがチップT₄の内面にほぼ完全に吸着され、その他の液は、セルC₄内へと吐出される。

【0122】この形態例において、上記磁力体Mは、チップT₄の長軸方向と直交する方向または直交する方向に後退しつつ上昇する等して移動させて行なうか、電磁石のオン・オフ制御によって行なわれる。

【0123】電磁石で行なう場合には、チップT₄の外側に当接したときにオン作動させて磁力を発生させ、消磁したときには、該電磁石をチップT₄からの長軸方向と直交する方向または直交する方向に後退しつつ上昇する等して移動させて行なうように制御される。

【0124】この後、内面に磁性体粒子Gが吸着されたチップT₄は、目的DNAを抽出・回収・単離処理に必要な制限酵素液等の試薬が予め収容されたセルC₅へと送られ、該位置で、上記と同様のパンピング作動による制限酵素液等の試薬の吸引・吐出作業が行なわれる(ステップ16)。この試薬の吸引・吐出作業は、チップT

24

4の先端部を試薬内に浸漬したままの状態で複数回連続して行われ、気泡の混入が防止される。このとき、磁力体Mの磁力の影響を受けない状態に該磁力体Mをセットすることで、制限酵素液等の試薬と磁性体粒子との混合攪拌を高精度に行なうことがで、高い反応状態を保証することができる。

【0125】次に、制限酵素液等の試薬と磁性体粒子との混合攪拌が十分行なわれた後、チップT₄は、この液を再びゆっくりと吸引・吐出し、この作業を1回以上、必要な回数だけ行い、磁力体Mによる磁性体粒子と液体との分離作業が行われる。

【0126】これにより、DNAが結合した磁性体粒子GのみがチップT₄の内面にほぼ完全に吸着され、その他の液は、セルC₅内へと吐出される(ステップ17)。

【0127】この後、内面に磁性体粒子Gが吸着されたチップT₄は、目的DNAを抽出・回収・単離処理に必要な試薬が予め収容されたセルC₆、C₇へと順次送られ、該セルC₆、C₇の配設位置で、上記と同様のパンピング作業による反応処理が行なわれる(ステップ18)。

【0128】このとき、上記磁力体Mの磁力の影響を受けない状態に該磁力体Mをセットすることで、試薬と磁性体粒子Gとの混合攪拌を高精度に行なうことができる。勿論、パンピング回数は、上記形態例に限定されるものではなく、必要に応じて適宜増減することができる。

【0129】また、上記処理工程の途中で、温度制御または増幅が必要な場合、例えば、90℃、60℃、40℃の温度管理が必要な場合には、目的温度に加熱された恒温セルC_{8A}、C_{8B}、C_{8C}に反応液を移送して行うように設計することもできる。この場合、従来のような一つの加熱手段で昇降温制御する場合や容器ごと加熱部位まで溶液を移送する場合に比べ、反応を効率よく行なうことができ、或は、温度管理による増幅も容易、かつ、短時間で行うことができると共に、容器の移送機構が不要となるので、装置を簡略化することができる。

【0130】そして、加熱温度が60℃や90℃のような場合、混合溶液が蒸発するため、これを防止するため、本形態例では、図18に示すように、蓋体Lを装着するように構成するのが望ましい。

【0131】この蓋体Lは、ヒータブロック等の加熱部材に開設された容器保持穴に収容されてなる恒温セルC_{8A}、C_{8B}、C_{8C}の内の高温に加熱される恒温セルC₈に嵌合係止されるもので、上記恒温セルC₈の口径よりも大きな直径を有する平面部L₁と、この平面部L₁の外周縁から下方に延設され上記恒温セルC₈の外周上部に突設された係止突起Y₁と係合する断面略レ字状の係止片部L₂と、上記平面部L₁の中央部に凹設された保持溝部L₃と、この保持溝部L₃の底部を塞ぐアルミニウ

25

ム等で形成された薄膜部L₄と、上記保持溝部L₃の外周部に突設されたシール突起部L₅と、から構成されており、上記保持溝部L₃は、ピペットノズルPの先端外径と同じ口径を有して形成されている。

【0132】尚、上記薄膜部L₄は、アルミニウム等の別体シール材を保持溝部L₃に加熱溶着し、或は、超音波溶着して形成し、または、保持溝部L₃と同じ材質である軟質プラスチックで薄膜状に形成してもよい。

【0133】従って、上記恒温セルC₈に混合溶液を注入した後、チップT₄が取り外されたピペットノズルPは、蓋体Lがストックされている位置まで移送された後、降下してピペットノズルPの先端部が蓋体Lの保持溝部L₃に圧入され、この後、上記ピペットノズルPは蓋体Lを保持したまま上記恒温セルC₈の真上まで移送されて降下し、蓋体Lの係止片部L₂と恒温セルC₈の係止突起Y₁とを係合させる。勿論、このとき恒温セルC₈は、ヒータブロック等の加熱部材から持ち上げられないように係止されている。

【0134】かかる作業が終了した後、上記ピペットノズルPは上昇するが、このとき、蓋体Lは恒温セルC₈に外れないように固着されているので、上記ピペットノズルPの先端部が蓋体Lの保持溝部L₃から抜け出し、ピペットノズルPのみが所定位置まで移動する。

【0135】この後、上記ピペットノズルPは、先端部に新たなチップ(図示せず)を装着して再び上記恒温セルC₈の真上まで移送された後、降下し、図19に示すように、チップTの先端部が蓋体Lの保持溝部L₃内に挿入されて上記薄膜部L₄を突き破って降下し、該恒温セルC₈内に収容された混合溶液を吸引した後、上昇して、この吸引された混合溶液を次の恒温セルC₈或はセルC₉へと移送するように駆動制御されている。

【0136】このようにしてセルC₉には、セルC₇または恒温セルC_{8A}内から全量吸引されたDNA溶液が吐出される。このとき、チップT₄の中径部K₁₂に磁力体Mが当接し、上記ピペットノズルPによる吸引・吐出作業が1回以上必要な回数だけ行なわれて磁性体粒子GとDNA溶液との分離作業が行われ、磁性体粒子GはチップT₄の内面に吸着されたまま保持され、DNA溶液だけが吐出される(ステップ19)。

【0137】尚、上記第1形態例では、フィルターホルダH₁、H₂と検体セルC₀と各セルC₁乃至C₉を反応工程順に並べて配置した場合を例にとり説明したが、この発明にあっては、これに限定されるものではなく、図20に示すように、検体セルC₀とDNA回収セルC₉の他は、フィルター精製に用いられるセルC₁乃至C₄群とフィルターホルダH₁、H₂群と磁性体粒子Gで処理されるセルC₅乃至C₇群及び恒温セルC_{8A}乃至C_{8C}群の各群をカセットに配置し、ピペットノズルPを前記反応工程に対応させて駆動制御するように構成してもよい。勿論、蓋体Lを恒温セルC_{8A}乃至C_{8C}群のカセッ

26

トに並設させてもよい。

【0138】図21は、この発明の第2形態例を示すものであって、この形態例では、前記単一の反応ラインと同じ配置からなる反応ラインを複数列、例えば、4列配置し、これら各ライン間を隔壁Xで画成して構成した場合を示している。勿論、この場合には、上記ピペットノズルは、各ライン毎に対応して必要本数が直列上に配置され、複数の検体を同時に処理することができるように構成されている。

【0139】また、上記各ラインに沿って配列される試薬容器R_a、R_b、R_c、R_d、R_e、R_f及び各試薬分注用チップT_{5A}、T_{5B}、T_{5C}、T_{5D}、T_{5E}、T_{5F}は、上記各ラインに沿って移動するピペットノズルP₁、P₂、P₃、P₄の移動軌跡に沿って並列に配置されている。

【0140】上記隔壁Xは、ピペットノズルP₁、P₂、P₃、P₄が引き上げられた状態でその先端部近傍を含む範囲の大きさを有する矩形状の板体からなり、この隔壁Xは隣りのラインとの作業空間を画成するものであり、これにより他のラインからの目的DNA以外のものが混入するのを防止することができる。

【0141】尚、上記隔壁Xに変わるものとして、上記各ライン間に、ライン方向に長い空気吸入口を有する空気吸入器(図示せず)を設けてエアー吸引を行う方法を用いることもできる。

【0142】これにより各ラインに下方向きの空気流の幕が発生し、上記隔壁Xを設けた場合と同様に隣のラインとの間の空間が画成され、他のラインからの目的DNA以外のものが他のラインに混入することを確実に防止することができる。エアー吸引による方法によれば、物理的な幕が存在するものでないことから、ピペットノズルの形状について、或は、移動についても比較的自由的な構成をとることができる。また、上記空気吸入器は、上記各ラインの上方に設けてもよく、この場合にはライン間に上方向きの空気流の幕が発生して空間が画成される。勿論、このエアー吸引方法と前記隔壁Xとを併用させることで、よりライン間のクロスコンタミネーションを防止することができる。

【0143】図22は、前記第2形態例で用いられるシリンドラJ₁を示しており、このシリンドラJ₁は、各ラインの作業を夫々別のシリンドラで行うのではなく、これを一つのシリンドラJ₁で処理するときの該シリンドラJ₁の構成を示しており、4連に接続されたピペットノズルP₁、P₂、P₃、P₄の夫々に前記第2形態例で用いられる着脱自在な各チップT₁、T₂、T₃、T₄およびT_{5A}、T_{5B}、T_{5C}、T_{5D}等が4本同時に装着されるように構成されている他は、他の構成・作用は公知のこの種のシリンドラと同様であるので、その詳細な説明をここでは省略する。勿論、この発明では、上記シリンドラに装着されるチップの数は、4本に限定されるものではなく、

27

液体処理ラインの数に対応させて1本以上であれば、複数本装着できるように構成することができる。

【0144】図23と図24は、図22に示すシリンダで液体の処理を行なうときに、磁力体Mと挟持体Vとを駆動制御する場合に好適な機構を示しており、この例では、櫛歯状に形成された磁石部M₁、M₂、M₃、M₄を有する磁力体Mと、これも櫛歯状に形成された挟持部V₁、V₂、V₃、V₄を有する挟持体Vとを開閉自在に昇降機構Oに軸支し、該昇降機構Oを昇降させることで、昇降機構OのローラO_R、O_Rが、図24に示すように閉じて、磁力体Mと挟持体Vが図23で示すスプリングO_Sによりチップ挟持方向に閉作動し、その結果、該4本のチップT_A、T_B、T_C、T_Dに対して、同時に磁力体Mを当接させ、或は、挟持体Vと磁力体Mとで同時に挟持することができるように構成されている。

【0145】このように磁力体Mと挟持体Vとを構成することで、液体処理ラインが第2形態例のように隔壁で画成されている場合であって、磁力体Mと挟持体Vが隔壁と衝突することなく、4本の液体処理ラインにおける磁性体粒子の吸着や攪拌混合或は液体の吸引・吐出作業を同じタイミングで同時に処理することができ、より簡単な構成で処理効率を大幅に向上させることができる。勿論、この発明では、磁力体Mと挟持体Vとを上記形態例のように4部構成で形成する場合に限定されるものではなく、ニーズに対応させて2部以上で形成してもよい。

【0146】尚、この発明にあっては、吸引・吐出ラインへの溶液の付着・吸引を防止するため、チップの太径部の上部にフィルタを装填することもできる。

【0147】

【発明の効果】以上説明したように、請求項1に記載された発明は、液体吸引・吐出ラインの吸引口または吐出口に着脱自在に挿着されるチップを介して容器内から目的高分子物質が含有された液体を吸引し、この液体または目的高分子物質を目的の次処理位置へと移送するように構成されてなる分注機を利用した液体処理方法を技術的前提とし、上記チップは、吸引した目的高分子物質を、磁性体粒子に吸着させ、及び／または、チップに装着されたフィルタで分離するように構成されているので、液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業および抽出・回収・単離作業を、分注機による液体の吸引・吐出作業および磁性体粒子の磁力体による制御または／およびフィルタとを組み合わせることによって自動的に、かつ、高精度に行うことができる。

【0148】また、請求項2に記載された発明によれば、請求項1に記載された発明が、抗生物質等の有用物質やDNA等の遺伝子物質および抗体等の免疫物質であり、特に、細胞・DNA・RNA・mRNA・プラスミド・ウイルス・細菌等の分子生物や微生物或は特定の高

28

分子物質の分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業または／および捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業に好適であり、従来の遠心分離処理に頼ることなく、目的高分子物質を得ることができる。

【0149】請求項3に記載された発明では、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップと、上記チップの先端部に装着される1種類以上のフィルタを利用することで、上記目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業を簡単、かつ、高精度に行なうことができる。

【0150】請求項4に記載された発明は、請求項3に記載された発明を前提とし、さらに、上記チップには、例えば、1段目に血球の殻を取るフィルタが配設されたフィルタホルダーを装着し、2段目にDNAを捕獲するシリカメンブランフィルタが配設されたフィルタホルダーを装着する、という具合に、複数のフィルタホルダーを多段に装着することで、上記目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業をより簡単、かつ、高精度に行なうことができる。勿論、各フィルタホルダーを装着して目的高分子物質の分離を行なう場合、この発明では、チップやフィルタホルダーを各1個ずつ嵌合して処理してもよいし、多段に重ねて装着して複数の作業を一度に行なってもよい。

【0151】また、請求項5に記載された発明によれば、この発明で用いられるフィルタを、目的高分子物質とそれ以外の夾雑物とを分離するポアサイズ（フィルタの透過径）の異なった1種類以上のものを用いることで、確実に目的高分子物質のみを得ることができる。

【0152】請求項6に記載された発明は、上記フィルタで液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業を行なった後は、前記液体吸引・吐出ラインの先端部に新たなチップを着脱自在に装着し、このチップで、磁性体粒子を含有する溶液の吸引・吐出を行なう過程で、上記磁性体粒子をチップ側に配設された磁力体でチップの内面に吸着させて目的高分子物質の抽出・回収・単離作業を行うように構成されているので、目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業と目的高分子物質の抽出・回収・単離作業を全自動で行なうことができる。

【0153】請求項7に記載された発明は、前記フィルタ方式の液体処理とは異なり、上記フィルタを用いることなく、上記目的高分子物質の捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップと、磁力と、1種類以上の磁性体粒子だけで実行するように構成されているので、より簡単な構成により高精度の液体処理を実現することができる。

29

【0154】請求項8に記載された発明は、請求項7に記載された発明によって、上記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させることで、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を自動的に行なうことができ、特定の目的高分子物質を容易に抽出・回収・単離することができる。

【0155】請求項9に記載の発明は、請求項7に記載された発明によって、上記抽出作業の後に、液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用してプローブ或は

10 ビオチンまたはストレプトアビジンがコーティングされた磁性体粒子を用いることで、遠心分離処理を行なうことなく、簡便に、かつ、高精度に特定の塩基配列断片を単離させることができる。

【0156】請求項10に記載の発明によれば、上記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させて、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を行ない、特定の目的高分子物質を抽出し、次に、プローブ或はビオチンまたはストレプトア

20 ビジンがコーティングされた他の磁性体粒子が特定の塩基配列断片を単離させる、という一連の作業を分注機の液体吸引・吐出ラインで容易に行なうことができる。

【0157】請求項11に記載された発明によれば、前記磁性体粒子を利用した目的高分子物質の捕獲・抽出・単離作業工程の後に、単離された特定の塩基配列断片を化学発光や蛍光、或は、酵素呈色させることで、特定の塩基配列断片の有無や量を容易に測定することもできる。

【0158】請求項12に記載の発明は、上記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップを利用して磁性体粒子と反応させて、細胞の捕獲・細胞核溶解・蛋白質溶解等の精製処理を行ない、特定の目的高分子物質を抽出し、次に、この抽出された目的高分子物質を増幅させた後、

30 プローブあるいはビオチンまたはストレプトアビジンがコーティングされた他の磁性体粒子が特定の塩基配列断片を単離させ、次に、この単離された特定の塩基配列断片を、化学発光、蛍光或は酵素呈色にて、その特定の塩基配列断片の有無や量を測定する、という一連の作業を分注機の液体吸引・吐出ラインで容易、かつ、フルオートで行なうことができる。

【0159】請求項13と請求項14に記載された発明

によれば、単一の液体吸引・吐出ラインまたは複数の並設された液体吸引・吐出ラインで、上記目的高分子物質

30

理する場合、上記液体吸引・吐出ラインは、ラインとも同じタイミングで前記目的高分子物質の分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業または／および捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を行なうように駆動制御され、或は、各液体毎に指定された処理工程により異なるタイミングで或いは独立した液体の吸引・吐出作動を行なうこともできるので、目的高分子物質に合致した処理工程を容易に組み立てることができる。

【0161】請求項17乃至請求項19に記載された発明によれば、上記単一または複数ライン並設された液体吸引・吐出ラインの作業空間を隔壁で画成し、或は、ライン作業空間のエアーを、エアー吸引口から吸引し続けて、作業空間をエアー流によって画成し、或は、これらを組み合わせることで、DNA等の抽出解析作業のような処理ライン間の空気汚染をも厳密に防止する要請がある液体処理であっても、容易にこれを実現することができる。

【0162】請求項20に記載された発明は、この発明に用いられる磁性体粒子を、その表面に目的高分子物質または目的高分子物質結合物質と吸着または結合させることで、遠心分離処理を行なうことなく、目的高分子物質を得ることができる。

【0163】請求項21に記載された発明は、請求項20に記載された磁性体粒子を用いる場合、該磁性体粒子は、前記チップの外側から作用する磁力によってチップ内壁面に吸着され、かつ、上記磁力の影響が及ばないときにチップ内壁面から離脱可能に保持されるようにコントロールすることで、目的高分子物質の捕獲と夾雑物との分離を高精度にコントロールすることができる。

30 【0164】請求項22と請求項23に記載の発明によれば、このチップ内への磁力の供給或は消磁の制御を、永久磁石をチップの長軸方向と直交する方向または直交する方向を含んで移動させて行なうか、或は、電磁石のオン・オフにより行なうことで、磁性体粒子の吸着や他の液体との攪拌混合或は洗浄をより効率的に行なうことができる。

【0165】請求項24に記載の発明は、電磁石で行なう場合には、チップの外側に当接したときにオン作動させて磁力を発生させ、消磁したときには、上記電磁石をチップから離間する方向に移動させることで、磁性体粒子の吸着や他の液体との攪拌混合或は洗浄をより効率的に行なうことができる。

【0166】請求項25に記載された発明によれば、液体吸引・吐出ラインからチップを外すときに、上記永久磁石または電磁石のチップ方向への移動のときに同期作動する挟持体と上記永久磁石または電磁石とで上記チップを挟持した後、液体吸引・吐出ラインを上昇させることで容易に外すことができる。

50 【0167】請求項26に記載された発明によれば、上記チップを、液体内に浸漬される細径部と、液体が収容

31

された容器の容量以上の容量を有する太径部と、上記細径部と太径部との中間に形成された少なくとも上記太径部よりも口径が小さい中間部と、から構成し、該中間部で磁性体粒子を捕獲するように構成したので、目詰まりを生ずることなく、また、磁力による磁性体粒子を短時間でほぼ完全に吸着させることができる。

【0168】請求項27に記載された発明は、請求項26に記載されたチップの中間部の内径を、該磁力体の強磁域が及ぶのに十分な寸法を有して構成し、磁性体粒子は、この磁力体の強磁域の磁力により捕獲されるように構成することで、磁力による磁性体粒子をより短時間でほぼ完全に吸着させることができる。

【0169】請求項28に記載された発明は、請求項26に記載されたチップの中間部の内径を、該中間部に当接する磁力体の当接面の幅寸法と略同一に形成することで、最も効果的な磁性体粒子の吸着を実現することができる。

【0170】請求項29に記載された発明によれば、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップ内壁面への磁性体粒子の吸着を、液体がチップ内の磁力域を磁性体粒子がほぼ完全に捕獲するに十分遅い速度で1回以上通過させるときに行なうことで、磁性体粒子の完全な捕獲を実現することができる。

【0171】請求項30に記載された発明によれば、前記チップ内を通過する液体の吸引または吐出される最終の液面が必ず上記磁力域に達するようにコントロールされているので、磁性体粒子のより完全な捕獲を実現させることができる。

【0172】請求項31に記載された発明によれば、所謂シングルノズルによって液体の吸引・吐出を行なう場合、前記液体吸引・吐出ラインに装着されたチップの先端部が、液体が収容された容器の内底部に当接させた後、ごく僅かに上昇させて液体を吸引するように構成したので、容器内の液体をほぼ全量吸引することができ、反応の均一性を保持させることができる。

【0173】請求項32に記載された発明によれば、前記チップ内に吸着された磁性体粒子と反応試薬または洗浄水との攪拌混合を、前記液体吸引・吐出ラインによる吸引・吐出作業が、液体と磁性体粒子とを攪拌混合するに十分な連続した回数で高速に行なう、所謂パンプ制御で行なうように構成したので、液体と磁性体粒子の攪拌混合を均一に行なうことができる。

【0174】請求項33に記載された発明によれば、液体と磁性体粒子の攪拌混合作業を行なう場合、前記液体吸引・吐出ラインによる吸引・吐出作業は、チップ先端部が容器内に収納された反応試薬または洗浄水に必ず浸漬した状態のまま実行することで、容器の液量と吸引吐出量がほぼ一致するように制御されているので、気泡が混入せず、無衝撃性をほぼ確保することができるので、気泡による目的高分子物質の磁性体粒子からの離脱を確

32

実に防止することができる。

【0175】請求項34に記載された発明によれば、目的高分子物質と試薬等との反応または目的高分子物質の増幅を促進させるため必要な温度制御を行なう場合、反応液或は増幅対象液を前記チップで予め一定温度に保たれた各恒温容器に移送して加熱或は冷却を行なうように構成されているので、反応液或は増幅対象液に対する加熱・冷却に要する時間を大幅に短縮化することができる。

【0176】請求項35に記載された発明は、上記温度制御のときに、前記液体吸引・吐出ラインの先端部に蓋体を装着し、該蓋体を、この液体吸引・吐出ラインを介して温度制御されている恒温容器に装着するように構成されているので、液体の蒸発を防止し、空気汚染も確実に防止することができる。

【0177】請求項36に記載された発明は、上記蓋体は、反応或は増幅作業が終了後、前記液体吸引・吐出ラインまたは該ラインに装着されたチップによって突き破られるように構成されているので、別途の吸引・吐出手段を配設することなく、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップによって恒温容器内の反応液或は増幅液を吸引することができるので、構成が簡略化されると共に、一連の作業を全自動化することが容易となる。

【0178】請求項37に記載された発明によれば、上記各液体処理方法を実現するため、分注機を利用した液体処理装置を、水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持された液体吸引・吐出ラインと、該液体吸引・吐出ラインの液体吸引・吐出作業を行なう手段と、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記処理に必要なフィルターが配設された1以上のフィルターホルダと、上記処理に必要な他の液体が収容された1以上の容器と、を配置し、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップは、制御装置からの指令に基づき上記チップにフィルターホルダを装着したまま移送されつつ液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業を行うように駆動制御して構成したので、遠心分離機のような作業が中断する手段を介設することなく、簡単な構成で目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業を自動化することができる。

【0179】請求項38に記載された発明によれば、水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持された液体吸引・吐出ラインと、該液体吸引・吐出ラインの液体吸引・吐出作業を行なう手段と、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記チップに液体が吸引され或は吐出するときに、液体に含有されている磁性体粒子をチップ内壁面に吸着させる磁力体と、上記処理に必要な他の液体が収容された1以

33

上の容器と、を配置して液体処理装置を構成し、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップは、制御装置からの指令に基づき上記チップを移送しつつ液体及び液体中に含まれる目的高分子物質の捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を行うように駆動制御されるように構成したので、遠心分離機のような作業が中断する手段を介設することなく、簡単な構成で目的高分子物質の捕獲・抽出・単離・増幅・標識・測定等の作業を自動化することができる。

【0180】請求項39に記載された発明によれば、分注機を利用した液体処理装置を、水平移動可能で、かつ、所定位置で昇降可能に保持された液体吸引・吐出ラインと、この液体吸引・吐出ラインの水平移動方向に沿って、1の液体の処理に対して必要な数のチップと、該液体が収容された容器と、上記処理に必要なフィルターが配設された1以上のフィルターホルダと、上記処理に必要な他の液体が収容された1以上の容器と、磁性体粒子が含有された溶液が収容された容器と、該磁性体粒子を含有する溶液の吸引・吐出を行なう過程で該磁性体粒子を上記チップの内面に吸着させる磁力体と、を配置して構成し、制御装置からの指令に基づき上記液体吸引・吐出ラインを移送しつつ液体及び液体中に含まれる目的高分子物質に必要な処理を行なうように構成したので、非常に簡単な構成で、目的高分子物質の定量・分離・分取・分注・清澄・濃縮・希釈等の作業および目的高分子物質の抽出・回収・単離作業という複雑な処理作業を連続して自動的に行うことができる。

【0181】請求項40に記載された発明によれば、前記液体吸引・吐出ラインに、該液体吸引・吐出ラインに嵌合保持されたチップを係止して保持するフックを回動自在に軸支し、該フックは、常態においては、液体吸引・吐出ラインとチップとの連結状態を保持する方向に付勢されていると共に、該フックは、所定位置に配設されたロック解除体によって液体吸引・吐出ラインとチップとの係止状態を解除する方向に付勢して構成されているので、チップの先端部にフィルターホルダーを着脱するときに、チップが液体吸引・吐出ラインから離脱するのを確実に防止することができ、また、上記フックによる係脱を自動的に行なうことができる。

【0182】請求項41に記載された発明によれば、上記フックが取り付けられた液体処理装置の場合、上記チップの先端部に装着された前記フィルターホルダーは、係合体に係止された状態で液体吸引・吐出ラインが上昇することで、該チップおよび／またはフィルターホルダーが液体吸引・吐出ラインまたはチップの端部から離脱するように移送されるので、チップおよび／またはフィルターホルダーの脱着作業を自動化することができる。

【0183】請求項42に記載された発明は、この発明に用いられる容器を、複数の液収容部をもったカセット状に形成することで、反応或は処理上必要な検体や試薬

34

を予め各液収容部に分注しておくことができるので、高精度の液体処理を実現することができる。この場合には、請求項43に記載された発明のように、各液収容部に予め収容された試薬の一部または全部を、液体吸引・吐出ラインまたはチップで破断可能な薄膜体で密封することで、試薬分注機構が不要となるため、装置構成を簡略化する上で望ましい。

【0184】請求項44に記載された発明は、前記磁力体を永久磁石で構成した場合、該永久磁石は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成されていると共に、上記チップの長軸方向と直交する方向に移動可能に配設することで、磁性体粒子の完全な捕獲は勿論、磁石の移動に伴う磁性体粒子の分散・移動による悪影響を確実に防止することができる。

【0185】請求項45に記載された発明は、上記永久磁石に代えて、前記磁力体を電磁石で構成し、該電磁石は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成すると共に、上記チップの外側に当接したときに磁力を発生させ、消磁したときにはチップの長軸と直交する方向または直交する方向を含んで移動可能に配設することで、チップの長軸方向に沿って磁力体が移動するのに伴って磁性体粒子が引き摺られて、コントロール外に移動し制御がしにくくなるのを確実に防止することができ、磁性体粒子の完全な吸着を実現することができる。

【0186】請求項46に記載された発明は、前記永久磁石または電磁石に、チップ方向への移動のときに同期して移動する挟持体を付設し、該挟持体は、チップに当接する面がチップの外形に合わせて形成されており、該挟持体と上記永久磁石または電磁石とで前記チップを挟持するように構成したので、液体吸引・吐出ラインを上昇させるだけでチップの取り外しを容易に行なうことができる。

【0187】請求項47に記載された発明は、前記液体吸引・吐出ラインによる液体処理工程に、目的高分子物質と試薬等との反応または目的高分子物質の増幅に必要な温度制御工程を入れ、反応液或は増幅対象液を前記チップで予め所定温度に保たれた各恒温容器に移送して温度制御を行なうと共に、上記反応液或は増幅対象液が収容された恒温容器には、上記液体吸引・吐出ラインの先端部に装着可能な蓋体が、液体吸引・吐出ラインによって装着されるように構成したので、目的高分子物質の増幅も一連の作業の中で連続処理することができる。

【0188】請求項48に記載された発明によれば、上記蓋体は、前記恒温容器の口径よりも大きな直径を有する平面部と、該平面部の略中央部に形成され前記液体吸引・吐出ラインまたはチップの先端外径と同じ口径を有する保持溝部と、から構成し、上記保持溝部の底部を、上記液体吸引・吐出ラインまたはチップで破断可能な薄膜体で形成したので、別途の蓋体供給手段や液体吸引・吐出手段を設ける必要がなくなり、この種の装置を大幅

35

に簡略化することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明の実施の第1形態例に係るDNA抽出・回収・単離のための装置の概略的な構成を示す平面説明図である。

【図2】同装置のノズルユニットの概略的な構成を示す断面図である。

【図3】同ノズルユニットのフック体によるチップの取り外し工程を示す作動説明図である。

【図4】同チップを取り外すためのU字体とチップとの係合前の状態を示す平面説明図である。

【図5】同チップを取り外すためのU字体とチップとが係合した状態を示す平面説明図である。

【図6】ロック解除ロッドでU字体を形成した一例を示す斜視図である。

【図7】この発明に用いられる2つのチップの形状例を示す断面図である。

【図8】ピペットノズルの構成と挟持体および磁力体との接離位置の関係をj示す説明図である。

【図9】この形態例に適用される磁力体と挟持体の構成を示す平面説明図である。

【図10】同磁力体と挟持体の取り付け位置を示す説明図である。

【図11】チップの中径部の口径と磁力体の幅寸法との関係を示す断面説明図である。

【図12】同装置によるDNA抽出・回収・単離作業のステップ1からステップ11までの工程を示すフロー説明図である。

【図13】同装置によるDNA抽出・回収・単離作業のステップ12からステップ19までの工程を示すフロー説明図である。

【図14】チップ取外体の一構成例を示す斜視説明図である。

【図15】フィルターホルダーとセルとの係合手段の他例を示す斜視説明図である。

【図16】チップと2つのフィルターホルダーを多段に

36

連結して用いる場合を示す断面図である。

【図17】フィルタ面積が大きなフィルタが取り付けられて成るフィルターホルダーの構成を示す断面図である。

【図18】本形態例で用いられる恒温容器と蓋体の断面図である。

【図19】同蓋体の薄膜体をチップで破って収容されたDNA増幅液を吸引する状態を示す説明図である。

【図20】この形態例に係るフィルターホルダーとセルとを反応処理工程で用いられるグループ毎にカセットにセットした状態を示す平面説明図である。

【図21】この発明の第2形態例に係る複数反応ラインからなるDNA抽出・回収・単離装置の概略的な構成を示す平面説明図である。

【図22】この発明に適用可能な4連ノズルシリンダの正面図である。

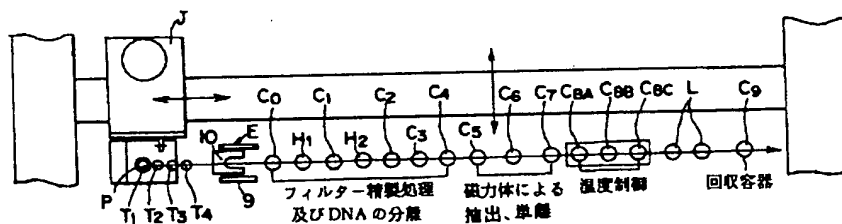
【図23】4連ノズルシリンダで処理するときの挟持体と磁力体との構成例を示す斜視図である。

【図24】同挟持体と磁力体の作動説明図である。

【符号の説明】

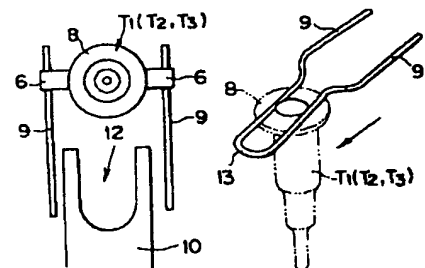
C, C₀乃至C₉ セル
F₁, F₂, F₃ フィルター
G 磁性体粒子
H₁, H₂ フィルターホルダー
J, J₁ シリンダ
K₁, K₁₁ チップの細径部
K₂, K₁₂ チップの中径部
K₃, K₁₃ チップの太径部
L 蓋体
M 磁力体
P ピペットノズル
R_a, R_b, R_c, R_d, R_e, R_f 試薬容器
T₁乃至T₅ チップ
V 挟持体
X 隔壁
6 フック

【図1】

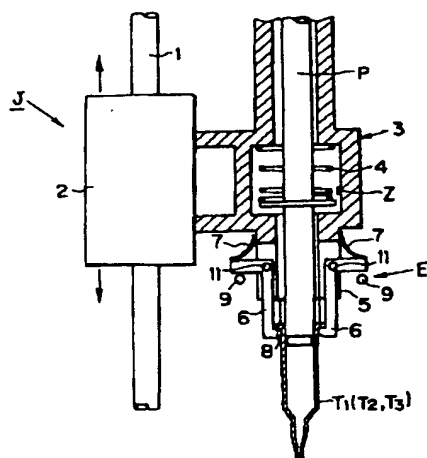


【図4】

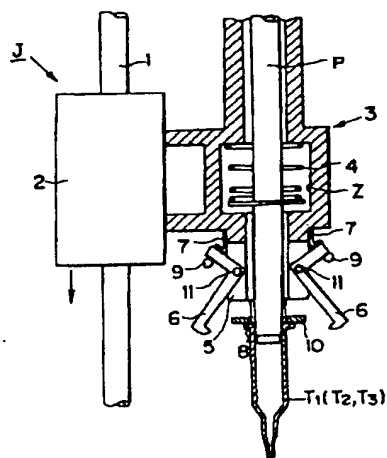
【図6】



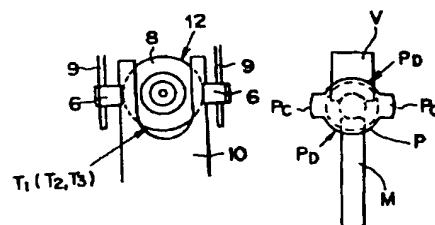
【図2】



【図3】

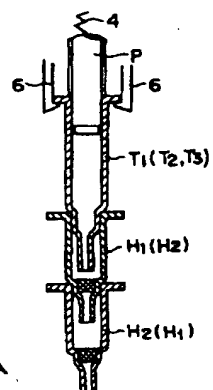


【図5】

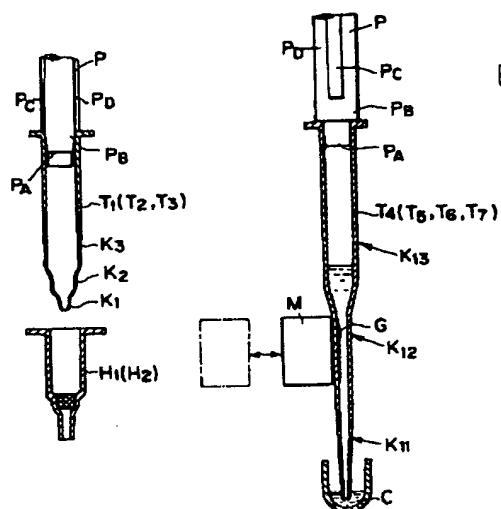


【図8】

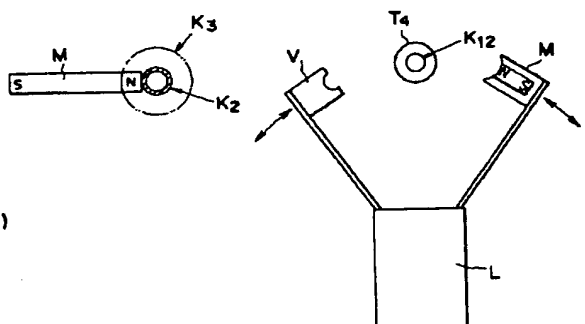
【図16】



【図7】

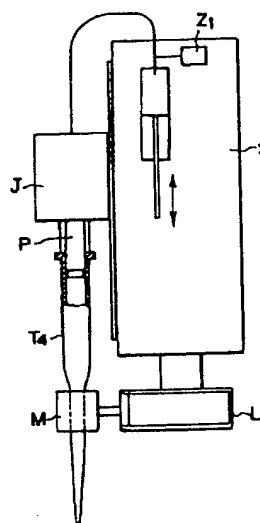


【図11】

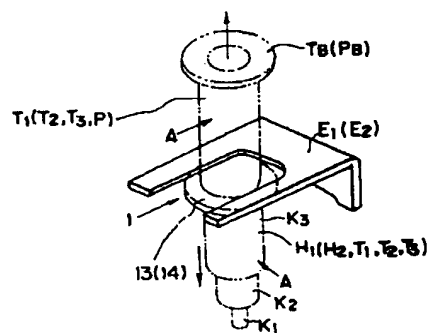


【図9】

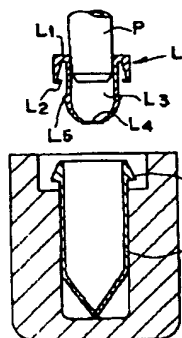
【図10】



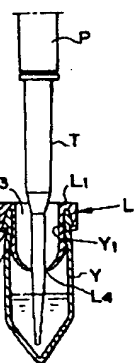
【図14】



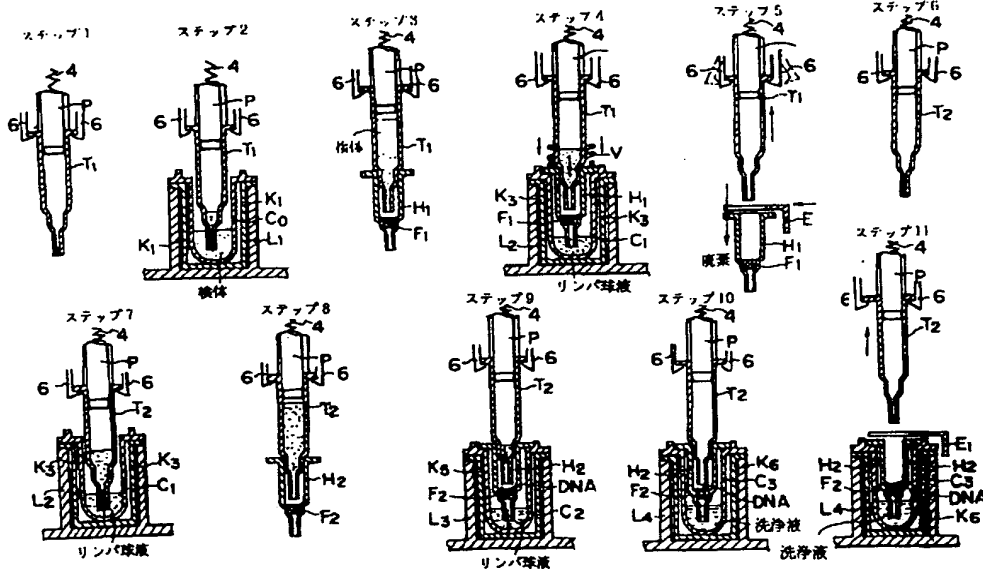
【図18】



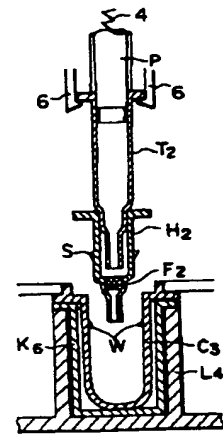
【図19】



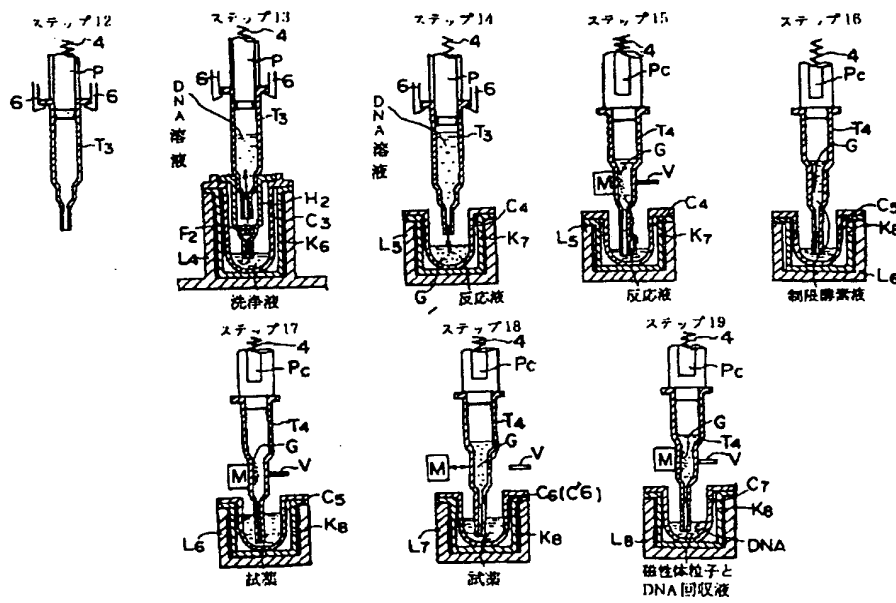
【図12】



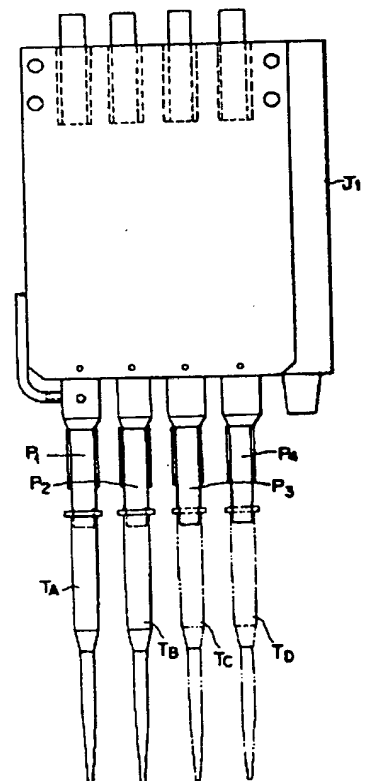
【図15】



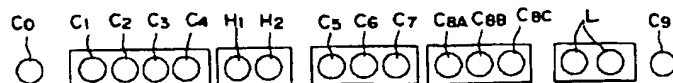
【図13】



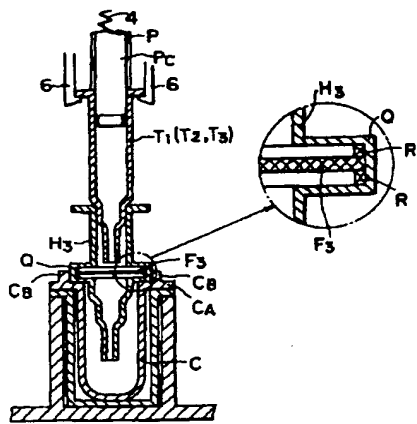
【図22】



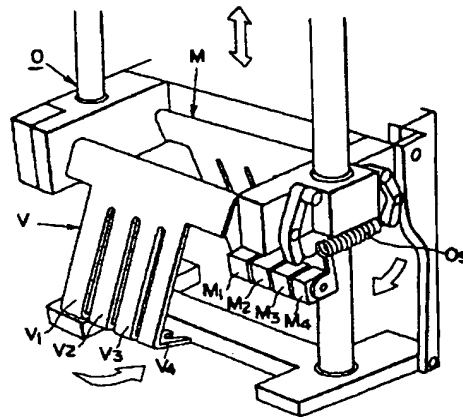
【図20】



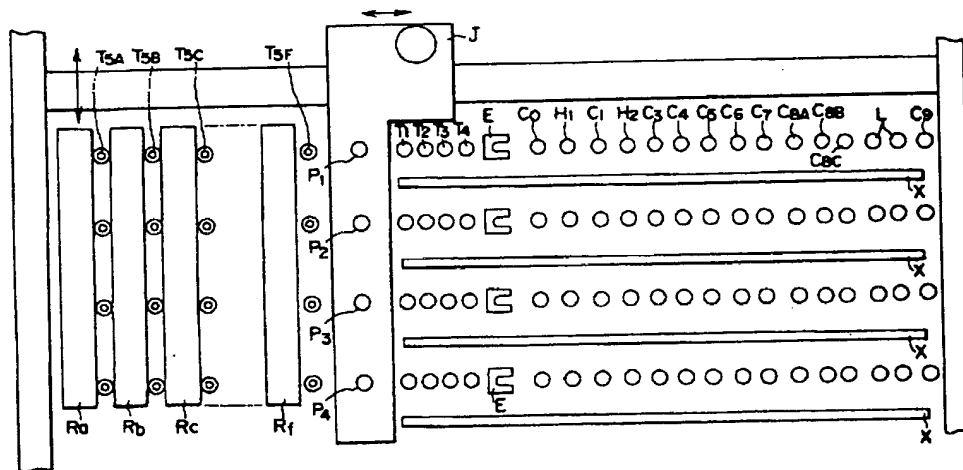
【図17】



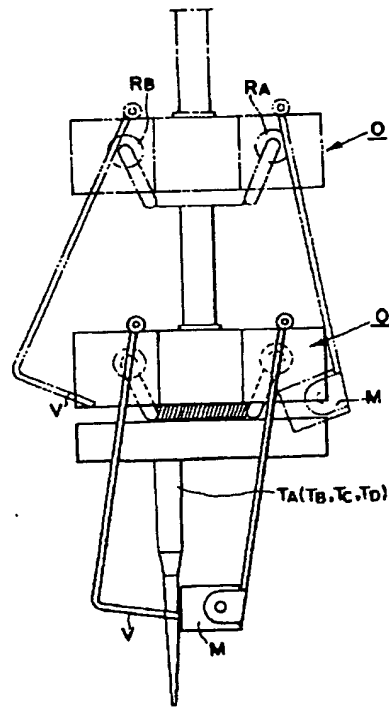
【図23】



【図21】



【図2.4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶
G 0 1 N 33/543

識別記号
5 3 1

庁内整理番号

F I
G 0 1 N 35/06

技術表示箇所

G